

BIOAKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIJI TUMBUHAN BINGKEK
(*Entada phaseoloides merr*)

Jismi Mubarrak¹⁾, Hilwan Yuda Teruna²⁾, Filza Yulina Ade¹⁾, Elfi Khairina¹⁾

¹⁾ Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Pasir Pengaraian

²⁾ Staf Pengajar FMIPA Universitas Riau

e-mail : jismimubarak@gmail.com

ABSTRACT

*The use of plants as traditional medicine has long been known. One of them is Bingkek (*Entada phaseoloides merr*). Seed of this plant has been being used in folk medicine for stomach ache, hernias and restore the condition of women after childbirth, so as well as food. The study aimed to determine the antioxidant bioactivity of various fractions of seeds Bingkek and to identify potential antioxidant compounds from this plant. The process started by macerating 500 g of seeds kernel by methanol. After 72 hours, the extract filtered and concentrated by rotary evaporator. Then, 80 g methanol extract is fractioned by hexane, dicloromethane and ethyl acetate. The result gained are 0.8 g hexane, dicloromethane 0.4 g, ethyl acetate 0.7 g and residual extract 23 g. the test result of each fraction antioxidant bioactivity with DPPH, showed 909,35 µg/mL hexane extract, 507,74 µg/mL dicloromethane, 712,61 µg/mL ethyl acetate and 77,60 µg/mL residual extract. The best value closest to vitamin C is the residual extract. Then, the phyrochemical profile showed that in residual extract contains phenolic compounds, triterpenoids, coumarin and saponins. It can be concluded that the residual extract has potential as good antioxidant. Further more it is necessary to carry out the study of the potential compounds of the antioxidant.*

Keywords :Antioxidant, DPPH, *Entada phaseoloides merr*.

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah oksidasi dari molekul lain dengan cara mengikat, mengadsorpsi dan menetralkan radikal bebas menjadi senyawa stabil (Rababah, *et.al.*, 2010). Berdasarkan perolehannya di kenal dua macam anti oksidan, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami (Dalimarta dan Sudibyo., 1999). Antioksidan sintetik dikenal sebagai antioksidan hasil rekayasa laboratorium, seperti butylated hidroksyl anisol (BHA) dan butylated hydroxyl toluena (BHT). Antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh dari ekstrak bahan alami seperti buah-buahan dan sayuran (Andarwulan, *et al.*, 2010), rempah-rempah (tao, *et al*, 2008), rumput laut, hewan juga dari biji bijian (Parathirana *et. al*, 2006). Antioksidan alami pada

umumnya memiliki jumlah yang sedikit, tetapi mampu menghambat atau memperlambat proses oksidasi secara bermakna. Senyawa antioksidan alami ini ada yang dieksploitasi secara komersial seperti tokoferol, asam askorbat dan kuersetin (Schuler, 1990) antioksidan alami yang tidak dieksploitasi secara komersial seperti senyawa fenolik yang meliputi golongan flavonoid, asam fenol, katekin dan yang berasal dari tanaman herbal dan rempah-rempah (Pratt, 1990).

Tumbuhan Bingkek (*Entada phaseoloides merr*) merupakan tumbuhan sejenis tumbuhan merambat dari family leguminosa yang berasal dari genus entada. Di Indonesia, tumbuhan ini terdistribusi di beberapa daerah seperti Bali, Jawa, Sumatera. Tumbuhan ini digunakan sebagai sumber obat tradisional. Masyarakat Kabupaten Rokan Hulu Provinsi Riau menggunakan bijinya

sebagai sebagai obat sakit perut (Mubarrak, 2013) sedangkan masyarakat sunda menggunakannya bijinya sebagai obat untuk memulihkan kondisi wanita yang baru melahirkan (Heyne, 1987). Di India, biji tumbuhan ini digunakan sebagai racun ikan (Barua, 1988), sedangkan Masyarakat Provinsi Yunan, China menggunakannya sebagai obat sakit perut dan hernia (Hui, 2010).

METODE PENELITIAN

Penanganan sampel

Biji Tumbuahn bingkek (*Entada Phaseolides merr*) sebanyak 1100 g diambil di Kecamatan Kepenuhan Kabupaten Rokan Hulu Provinsi Riau. Biji tersebut terlebih dahulu di kering anginkan selama 2 (dua) bulan dan dijaga agar tidak terkena sinar matahari langsung, setelah kering dibuka dan di pisah kulit dan isi bijinya. Sebanyak 500g ditumbuk dan haluskan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rotary evaporator, lampu ultraviolet panjang gelombang 254 dan 366 nm, timbangan analitik, *microplate reader* 96 well (berthold LB-941).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain biji tumbuhan bingkek yang sudah dihaluskan, Pelarut teknis metanol, etil asetat, diklorometana, methanol grade HPLC, silica gel 60 GF₂₅₄, plat KLT GF₂₅₄, 2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dan vitamin C, asam sulfat anhidrat, asetat glacial, pereaksi Dragendroff, Anisaldehyd.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 500 g serbuk biji bingkek di rendam dalam bejana ekstraksi dengan pelarut metanol selama 3 x 24 jam pada suhu kamar, lalu disaring. Proses ekstraksi ini dilakukan sebanyak lima kali dan maserat yang didapat diuapkan pelarutnya sehingga didapat ekstrak metanol. Selanjutnya

ekstrak yang telah dikumpulkan di fraksinasi berturut-turut menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana dan etil asetat. Ekstrak yang didapat dari masing-masing fraksi di kumpulkan dan di uapkan pelarutnya. Ekstrak tersebut selanjutnya dilakukan pengujian bioaktifitas antioksidan.

Uji Aktivitas anti oksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan *microplate reader two fold delution* dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) (Zhang, *et al.*, 2006) pada panjang gelombang 520 nm. Sampel sebanyak 2 mg dilarutkan kedalam 2 mL MeOH dalam hal ini konsentrasi sampel 1000 µg/mL. Baris A dimasukkan sampel sebanyak 100 µL (*plate* terdiri dari baris A-H masing-masing berjumlah 12 sumur). Sebanyak 50 µL MeOH dimasukkan kedalam masing-masing sumur pada baris B-F. Baris A dipipet sebanyak 50 µL dan dimasukkan ke baris B, baris B dipipet 50 µL dimasukkan ke baris C dan dilakukan sampai baris F, baris F dipipet µL lalu dibuang, sehingga di peroleh konsentrasi 1000, 500, 125, 62.5, 31.25 µg/mL. Sedangkan pada baris G-H diisi dengan MeOH µL, khusus pada baris H diisi hanya sumur 1-6. Baris A-G ditambahkan DPPH sebanyak 80 µL dengan konsentrasi 40 µg/mL. Kemudian diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas penangkapan radikal diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH dengan *microplate reader* dan olah data. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu vitamin C dengan konsentrasi 50 µg/mL. nilai % inhibisi dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{Hambatan} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

Keterangan :

A_{kontrol} = Absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sampel} = Absorbansi sampel

Selanjutnya nilai hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan linier dengan konsentrasi $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebagai absis (sumbu x) dan nilai persen inhibisi sebagai ordinatnya (sumbu y). Nilai IC_{50} nilai dari perhitungan pada saat inhibisi sebesar 50%.

Identifikasi Profil Fitokimia

Ekstrak biji bingkek dilarutkan dalam pelarut metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan kapiler, kemudian dibiarkan kering pada udara terbuka. Selanjutnya dielusi dalam bejana hingga noda terpisah baik. Noda yang dihasilkan dimonitor dengan lampu UV panjang gelombang 254 atau 365 nm.

a. Identifikasi terpenoid

Untuk analisa senyawa terpenoid/steroid, setelah kering plat KLT disemprotkan dengan pereaksi Lieberman–burcard, kemudian dipanaskan selama 3-10 menit pada 100°C . Adanya terpenoid akan ditandai dengan munculnya warna merah. Sedangkan warna biru menandakan steroid.

b. Identifikasi alkaloid

Untuk analisa alkaloid, noda yang terbentuk disemprot menggunakan pereaksi Dragendorff, munculnya warna coklat kemerahan menunjukkan adanya alkaloid

c. Identifikasi fenolik

Pada analisa fenolik, plat disemprotkan dengan reagen anisaldehyd-asam sulfat munculnya warna merah muda menunjukkan adanya senyawa fenolik.

d. Identifikasi kumarin

Untuk analisa kumarin, noda yang dihasilkan dimonitor dengan lampu UV panjang gelombang 365 nm dan terlihat fluoresensi, kemudian noda pada KLT tersebut disemprot dengan NaOH 1 % dan etanol: air (1:1) dimonitor kembali dengan lampu UV maka terlihat fluoresensi yang semakin terang menunjukkan adanya kumarin

HASIL DAN PEMBAHASAN

Maserasi biji tumbuhan bingkek dengan pelarut metanol 3 x 24 jam setelah disaring didapat ekstrak berwarna kuning. Selanjutnya dipekatkan dengan rotary evaporator. Pengulangan maserasi dilakukan hingga lima kali dan setelah pemekatan didapat ekstrak kental metanol berwarna coklat kehitaman sebanyak 83 ml. Sebanyak 80 mL ekstrak kental tersebut di fraksinasi berturut-turut menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana, etil asetat. Hasil didapat berupa ekstrak n-heksana 0,8 g, diklorometana 0,4 g, etil asetat 0,7 g dan residu ekstrak 23 g. selanjutnya dilakukan pengujian antioksidan.

Pengujian bioaktivitas antioksidan pada masing masing ekstrak n-heksana, diklorometana, etil asetat dan residu methanol menggunakan *microplate reader* 96 well (berthold LB-941) setelah dilakukan perhitungan dengan konsentrasi $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebagai absis (sumbu x) dan nilai persen inhibisi sebagai ordinatnya (sumbu y). melalui grafik didapat nilai IC_{50} seperti pada tabel dibawah ini.

Tabel 1 Nilai IC_{50} pengujian antioksidan dari berbagai fraksi biji tumbuhan bingkek

No	Nama Fraksi	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	n-heksana	909,35
2	Diklorometana	507,74
3	Etil asetat	712,61
4	Residu ekstrak	77, 60
5	Kontrol (Vitamin C)	42, 03

Pada prinsipnya, antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. (Winarsi, 2007). Kemampuan antioksidan ditentukan oleh nilai IC_{50} . Semakin rendah nilai IC_{50} suatu senyawa atau ekstrak, semakin

bagus pula sifat antioksidannya. Dari tabel diatas dapat terlihat nilai IC₅₀ ekstrak metanol 909,35 µg/mL, diklorometana 507,74 µg/mL, ekstrak etil asetat 712 µg/mL, dan residu ekstrak 77,60 µg/mL. Untuk pembandingan digunakan Vitamin C, yang merupakan antioksidan alami yang mudah didapat dan harganya murah. Minami *et.al.* 1993. membagi nilai antioksidan kedalam dalam tiga kelompok berdasarkan nilai IC₅₀. Yaitu: sangat aktif, aktif, dan tidak aktif. Sangat aktif bila nilai IC₅₀ < 10 µg/mL, katagori aktif bila bernilai < 100 µg/mL, dan tidak aktif bila memberikan nilai > 100 µg/mL. Dari tabel diatas, nilai IC₅₀ residu ekstrak sebesar 77,60 µg/mL, ini menandakan bahwa residu ini bersifat aktif. Aktifnya ekstrak ini juga ditandai dengan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning. Selanjutnya, residu ekstrak yang aktif ini dilakukan uji profil fitokimia untuk menentukan kandungan golongan senyawa dari ekstrak tersebut. Hasil uji profil fitokimia dapat dilihat pada tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2 Profil Fitokimia Residu Ekstrak Biji Tumbuhan Bingkek

No	Metabolit sekunder	Pereaksi	Hasil Uji
1.	Alkaloid	Dragendorff	(-)
2.	Steroid	Lieberman-burchard	(-)
3.	Triterpenoid	Lieberman-burchard	(+)
4.	Fenolik	Anisaldehyd-Asam sulfat	(+)
5.	Kumarin	NaOH/Etanol/Air	(+)

Dari uji profil fitokimia residu ekstrak biji bingkek yang disajikan pada tabel 2 diatas, dapat dilihat bahwa residu

ekstrak tersebut mengandung senyawa golongan tritepenoid, fenolik dan kumarin. Adanya kandungan triterpenoid pada ekstrak ditandai dengan terjadinya perubahan menjadi warna merah pada plat kromatografi lapis Tipis setelah disemprotkan pereaksi Ilikeberman-burchard dan pemanasan 100 °C selama 3 menit. Hasil positif senyawa fenolik ditandai dengan perubahan menjadi warna merah pada pereaksi anisaldehyd-asam sulfat dan fluoresensi yang semakin terang pada penyemprotan dengan NaOH/etanol/air ketika diamati dengan lampu ultraviolet panjang gelombang 366 nm.

Pratt, 1990. Menyatakan nilai antioksidan suatu senyawa atau ekstrak dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenolik dari tumbuhan tersebut. Senyawa fenolik yang dimaksud termasuk juga didalamnya senyawa asam-asam fenol, kalkona, dan flavonoid. Menurut Suarez *et.al*, 2010. Banyaknya kandungan fenolik dalam ekstrak juga sangat mempengaruhi nilai bioaktivitas antioksidan. Dari uji profil fitokimia diatas dapat dilihat terdapatnya kandungan fenolik yang tinggi pada residu ekstrak dapat meningkatkan bioaktivitas antioksidan ekstrak tersebut. Penelitian ini dapat menyimpulkan bahwa biji tumbuhan bingkek berpotensi sebagai antioksidan. Nilai antioksidan yang tinggi terdapat pada residu ekstrak, ini dipengaruhi oleh kandungan fenolik yang ada pada ekstrak tersebut. Lanjutan dari penelitian ini diharapkan di isolasinya senyawa yang berpotensi antioksidan tersebut dari residu ekstrak biji tumbuhan ini.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa residu ekstrak biji bingkek memiliki potensi sebagai antioksidan. Tingginya nilai antioksidan disebabkan banyaknya kandungan

senyawa fenolik yang dapat pada residu ekstrak tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada DITJEN DIKTI yang telah memberikan bantuan dana Penelitian Hibah Kerjasama Antar Perguruan Tinggi (PEKERTI) DIPA Kopertis X, Tahun 2014 No. SP DIPA-023.04.2.532476/2014.

DAFTAR RUJUKAN

- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, DA., Boling, B., Wijaya, H. 2010. Flavonoid Content and Antioksidant Activity of Vegetables from Indonesia. *J. Food Chemistry*, 121: 1231-1235
- Barua, A. K., Chakrabarty, M., Datta, P.K., dan Ray, S. 1988. Phaseoloidin, A Homogentisic Acid Glucoside From *Entada phaseoloides*. *J. Phytochemistry*, Vol. 27.No. 10. 3259-3261.
- Dalimarta, S. dan Soedibyo, M. 1999. Awet Muda dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen. Trubus Agriwidya, Jakarta. Hal. 36-40
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Jilid III. 1390-1443.
- Hui, X., Xiao, E., Ying-hong, Z., Guang-zhong, Y., Zhi-nan, M. 2010. Sulfur Containing Amides from (*Entada phaseoloides*) *J. Acta Pham Sin Vol. 45* 624-626
- Mubarrak, J. 2011. Isolasi Senyawa Glikosida dari Biji Tumbuhan Bingkek (*Entada phaseoloides merr*). Tesis. Universitas Andalas, Padang
- Minami, H., Kinoshita, M., Fukuyama, Y., Kodama, M., Yoshiozawa, T., Suigura, K. and Tagi. 1993. Antioxidant xanthenes from *Garcinia subelliptica*. *J. Phitochemistry*.
- Tao, Q.F., Xu, Y., Lam, R.Y.Y, Schneider, B., Dou, H., Leung, P.S., Shi, S.Y., Zhou, C.X., Yang, L.X., Zhang, R.P., Xiao, Y.P., Wu, X. 2008. Diarylheptanoid and a Monoterpenoid from the Rhizomes of *Zingiber officinale* : Antioksidant and Cytoprotective Properetis, *J. Nat. Prod* 12(71): 12-17
- Parathirana. C.M.L., Shahidi, F. 2006. Importance of Insoluble-Bound Phenolic to Antioksidant Properties of Wheat. *J. Agris. Food Chem.* 54 (4) 1256-1264
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan alami dan radikal bebas. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Rababah, T.M., Banat, F., Rababah. A., Ereifej, K. dan Yang, W. 2010. Optimization of extraction conditions of total phenolic, antioxidant activities, and anthocyanin of oregano, thyme, terebinth, and pomegranate, *Journal of food science* 75 (7): C626-C632.
- Suarez, B., Alvarez, A.L., Gancia, Y.D., Barrio, G.D. 2010. Phenolic profiles, Antioxidant Activity and In Vitro Antiviral Properties of Apple Pomace. *J. Food Chemistry* 120: 339-342
- Schuler, P. 1990. Natural antioxidant exploited commercially in food antioxidant, edited by B.J.F. Hudson. Elsevier Science, New York. 99-170
- Pratt, D.E. 1990. Natural antioxidant Not exploited commercially in food antioxidant. Edited by B.J.F. Hudson. Elsevier Science, New York. 171-191.
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D.A., dan Barrow, C.J. 2006. A Simple 96-well

Microplate Method for
Estimation of Total Polyphenol
Content in Seaweeds. *Journal of
Applied Phycology*, 18: 445-450